

RESPON AKTIVITAS AMILASE DAN PROTEASE IKAN GURAMI *Osphronemus gouramy* Lac. TERHADAP PERBEDAAN TEMPERATUR AIR

DWIYAN OKTAVIANTO, UNTUNG SUSILO, SLAMET PRIYANTO

Fakultas Biologi, Universitas Jenderal Soedirman, Jalan dr. Suparno 63 Purwokerto 53122

ABSTRACT

Research to determine the activity of amylase and protease digestion gourami on various temperature has been carried out experimentally using a completely randomized design (CRD) with 3 treatments and 4 replications. The treatments were included gourami nurturing on water temperature 24°C (P1), gourami nurturing on water temperature 28°C (P2), and gourami nurturing on water temperature 32°C (P3). The results the amylase activity is showed no significant difference between treatments ($P>0,05$) where as protease activity showed there are significant differences between treatments ($P0\leq0,05$). In conclusion, the difference in protease activity of gourami occured in water temperature 24°C (P1) and 28°C (P2) and the protease activity was highest at 28°C water temperature, but the amylase activity did not difference.

KEY WORDS: amylase, digestion, gourami, protease, and temperature

Penulis korespondensi: DWIYAN OKTAVIANTO | email: dwiyanoktavianto@gmail.com

PENDAHULUAN

Ikan air tawar merupakan ikan yang banyak digemari dan dikonsumsi sebagian besar masyarakat Indonesia. Beberapa jenis ikan air tawar yang banyak digemari oleh masyarakat Indonesia diantaranya Ikan Gurami (*Osphronemus gouramy* (Lacepede)), Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.), Lele Dumbo (*Clarias Gariepinus*), dan Ikan Mujair (*Oreochromis mossambicus*).

Jenis-jenis ikan air tawar yang ada di Indonesia khususnya ikan gurami memiliki nilai ekonomi yang tinggi karena harga jualnya lebih mahal dari ikan air tawar lainnya. Oleh sebab itu, ikan gurami menjadi salah satu ikan air tawar yang banyak dibudidayakan oleh masyarakat. Perkembangbiakan ikan gurami tidak tergantung pada musim serta terjadi sepanjang tahun (Affandi *et al*, 2005). Pertumbuhan benih ikan gurami yang lambat diduga selain karena faktor nutrisi juga karena faktor lingkungan salah satunya adalah temperatur.

Temperatur lingkungan tempat hidup ikan yang dapat berubah sewaktu-waktu sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan ikan gurami karena ikan tersebut sifatnya peka dengan perubahan temperatur lingkungan disekitarnya (Rahayu, 2002). Lambatnya pertumbuhan benih ikan gurami diduga karena temperatur tempat hidupnya tidak sesuai akibat terjadinya perubahan kondisi lingkungan (Hermanto, 2000). Setiap makhluk hidup memiliki batas toleransi terhadap kondisi lingkungan seperti temperatur, oleh karena itu makhluk hidup tersebut harus dapat beradaptasi dengan perubahan temperatur tersebut.

Adaptasi ikan gurami terhadap kondisi lingkungan tertentu (perubahan temperatur) diawali dengan aklimasi. Aklimasi merupakan respon yang diberikan oleh ikan terhadap suatu perubahan faktor lingkungan yang dapat menyebabkan perubahan fisiologis pada ikan (Wijayanti, 2004). Perubahan temperatur perairan (naik dan turun) yang mencolok dalam proses aklimasi dapat mempengaruhi proses fisiologis dan biokimiawi di dalam tubuh ikan

(Hermanto, 2000). Temperatur rendah di bawah normal 28-30°C dapat menyebabkan ikan berada dalam kondisi letal, kehilangan nafsu makan dan menjadi lebih rentan terhadap penyakit (Moyle dan Joseph, 2001).

Menurut Moyle dan Joseph (2001) ikan gurami memiliki alat digesti berupa usus halus yang panjangnya melebihi panjang total tubuhnya, yakni dapat mencapai lima kali panjang total badannya. Proses digesti pada ikan gurami melibatkan enzim, diantaranya enzim amilase dan protease. Aktivitas enzim amilase pada ikan herbivora lebih tinggi daripada aktivitas enzim protease, berbeda dengan aktivitas enzim protease pada ikan omnivora dan karnivora yang lebih tinggi daripada enzim amilasena (Furne *et al*, 2005).

Penelitian tentang aktivitas amilase dan protease digesti pada ikan dengan temperatur air yang berbeda telah dilakukan sebelumnya, misalnya pada penelitian Hermanto (2000) menyatakan aktivitas enzim pencernaan pada ikan gurami dipengaruhi temperatur air. Temperatur air dapat mempengaruhi proses fisiologis termasuk aktivitas proses enzimatis dalam tubuh (Budiyati *et al*, 2009). Grizzle dan Rogers (2003) juga menyatakan bahwa pada ikan dan beberapa hewan akuatik, temperatur lingkungan dapat mempengaruhi proses fisiologis yang terjadi di dalam tubuh, salah satunya adalah aktivitas enzim. Carman *et al* (2006), temperatur hidup benih ikan gurami usia 1 minggu- 1 bulan adalah berkisar antara 26°C-28°C. Tranggono dan Sutardi (2005) juga menyebutkan bahwa pada temperatur 26°C-30°C aktivitas enzim pencernaan pada ikan gurami paling tinggi. Menurut Setyowati *et al* (2007) ikan air tawar memiliki aktivitas enzim pencernaan paling tinggi pada kisaran temperatur 25,5°C-28°C.

Aktivitas enzim digesti pada ikan gurami temperatur yang berbeda belum banyak diinformasikan, padahal pengetahuan fisiologi digesti ini penting untuk dijadikan pedoman strategi pemeliharaan dan budidaya dalam upaya

mengoptimalkan produksi ikan gurami. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas amilase dan protease digesti ikan gurami pada temperatur air yang berbeda.

METODE

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan gurami (*Osphronemus gouramy*, Lac.) sebanyak 24 ekor dengan berat rata-rata $13 \pm 1,89$ gr, pakan ikan berupa pelet dengan kandungan protein 35%, lempengan es, larutan protein standar (0,05 mg/ml-1,0 mg/ml kasein), larutan tirosin standar (10 µg/ml-250 µg/ml), larutan 1% amilum, larutan 6,0 mM NaCl, larutan 2% asam dinitrosalisilat, larutan ekstrak enzim, akuades, milimeter blok, penggaris, timbangan teknikal, akuarium ukuran 40x60x50 cm³, bak preparat, alat bedah, pinset, botol film, homogenizer listrik, sentrifuse elektrik, lemari pendingin, tabung reaksi, pipet tetes, spektrofotometer tipe U-3900, tabung sentrifugasi mikro, beker glass, pemanas listrik dan kertas aluminium foil. Penelitian dilaksanakan pada skala laboratorium di Laboratorium Fisiologi Hewan Fakultas Biologi Unsoed dan Laboratorium Riset Unsoed dan percobaan dilakukan mulai bulan Januari sampai November 2013.

Pemeliharaan ikan dilakukan selama 7 hari secara eksperimental dengan menggunakan rancangan dasar acak lengkap (RAL) dengan tiga perlakuan temperatur air yaitu 24°C, 28°C, dan 32°C, serta empat kali ulangan. Perlakuan meliputi : ikan gurami yang dipelihara pada temperatur 24°C (P1), ikan gurami yang dipelihara pada temperatur 28°C (P2), dan ikan gurami yang dipelihara pada temperatur 32°C (P3). Variabel yang digunakan yaitu variabel bebas dan variabel tergantung. Variabel bebas adalah temperatur air yang berbeda, variabel tergantung adalah aktivitas amilase dan protease. Parameter yang diukur adalah aktivitas amilase dan protease digesti ikan gurami, banyaknya mikrogram maltosa dan tirosin yang dihasilkan per menit.

Akuarium yang digunakan dalam penelitian adalah akuarium fibber dengan ukuran 40 x 50 x 60 cm³ sebanyak 3 buah. Akuarium tersebut dibersihkan terlebih dahulu dan dicuci bersih, selanjutnya diisi dengan air bersih sebanyak $\frac{3}{4}$ dari total volume akuarium. Ikan gurami diperoleh dari petani ikan di Desa Beji, Kecamatan Kedung Banteng, Kabupaten Banyumas. Benih yang diperoleh adalah ikan sehat yaitu memiliki ciri-ciri sehat, nafsu makan tinggi, warna sisik tidak menunjukkan gejala sakit yaitu berwarna abu-abu atau hitam yang tidak merata di sebagian anggota tubuhnya atau seluruh anggota tubuhnya. Ikan gurami yang digunakan dalam penelitian terlebih dahulu diaklimasi selama 1 minggu pada suhu 28°C. Selama aklimasi ikan diberi pakan sebanyak 5% dari bobot tubuh ikan dan di timbang bobot tubuhnya sebagai bobot awal, kemudian ikan dimasukkan pada akuarium penelitian atau percobaan. Ikan uji yang telah diaklimasi ditempatkan ke dalam 3 buah akuarium *fibber* yang telah diisi air sebanyak $\frac{3}{4}$ dari volume totalnya, kemudian diatur temperatur airnya yaitu 24°C, 28°C, dan 32°C. Perbedaan temperatur pemeliharaan tersebut diatur dengan menggunakan *chiller* dan *heater*. Masing-masing akuarium ditempatkan 8 ekor ikan gurami yang kemudian dipelihara selama 1 minggu.

Ikan gurami yang sudah diuji kemudian dibedah dan diambil saluran digestinya. Ikan sampel tersebut dibedah dengan menggunakan gunting bedah mulai dari lubang anus ke arah depan sampai dekat sirip dada. Pengguntingan dilakukan secara hati-hati agar organ yang terletak di sebelah dalam tidak ikut tergunting dan tidak rusak, kemudian saluran digesti (usus) dikeluarkan dan

dimasukkan ke dalam botol film yang sudah diberi label lalu disimpan dalam lemari pendingin.

Saluran digesti ikan yang diujikan yaitu dengan mengambil usus pada saluran pencernaan. Bagian saluran digesti yang telah diambil selanjutnya dibersihkan isinya pada suhu -4°C untuk menghindari terjadinya kerusakan jaringan. Saluran digesti yang telah dibersihkan, dimasukkan ke dalam wadah yang sudah diberi label lalu disimpan dalam *refrigerator* bersuhu -20°C. Saluran digesti kemudian dihancurkan dengan menggunakan *homogenizer* elektrik dalam larutan Tris HCL dengan rasio 1 : 4. Homogenat yang diperoleh tersebut lalu disentrifugasi pada suhu 4°C pada kecepatan 12000 rpm selama 10 menit, dan supernatan yang diperoleh digunakan untuk uji aktivitas enzim (Natalia *et al*, 2004).

Penentuan kadar protein dilakukan dengan cara sebagai berikut : Pertama, 4 tabung standar disiapkan dan diisi 0,1 ml larutan protein. Kedua, 10 tabung sampel diisi dengan 0,1 ml larutan protein sampel. Keempat tabung standar dan 10 tabung sampel ditambahkan 5 ml pereaksi C, lalu larutan tersebut dikocok dan dibiarkan pada suhu kamar selama 10 menit. Tahap selanjutnya, semua tabung ditambahkan lagi dengan 0,5 ml pereaksi D (Larutan 1 N pereaksi Folin Ciocalteu), kemudian dikocok dan didiamkan kembali selama 30 menit. Absorbansinya diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 660 nm. Kadar protein sampel diukur dengan kurva standar kasein (Lowry *et al*, 1951 dalam Sebayang, 2005).

Pengukuran aktivitas amilase dimulai dari menyiapkan tabung untuk sampel, kontrol, blanko dan standar. Tabung sampel diisi dengan 700 µl amilum 1% dan 100 µl larutan ekstrak enzim, tabung kontrol diisi dengan 100 µl aquades dan 700 µl larutan Dinitrosalisilat 2%. Tabung standar diisi dengan larutan maltosa standar 700 µl dan aquades sebanyak 100 µl, tabung blanko diisi dengan aquades sebanyak 800 µl. Kemudian tabung kontrol, standar, dan blanko diinkubasi pada suhu 37°C, sedangkan tabung sampel diinkubasi pada suhu 24°C, 28°C, dan 32°C. Keempat tabung tersebut diinkubasi selama 30 menit. Tahap selanjutnya, Larutan DNS 2% sebanyak 700 µl ditambahkan ke dalam tabung standar, sampel, serta blanko, dan 700 µl substrat Amilum 1% ke dalam tabung kontrol setelah keempat tabung tersebut diinkubasi. Keempat tabung tersebut selanjutnya dimasukkan ke dalam air yang telah dididihkan selama 5 menit, kemudian didinginkan dan disentrifugasi pada kecepatan 12000 rpm selama 10 menit. Larutan standar, sampel, blanko, dan kontrol selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang gelombang 540 nm dengan menggunakan *spektrofotometer*. Aktivitas enzim amilase dihitung menggunakan kurva standar maltosa dengan standar kalibrasi 15 mM; 30 mM; 75 mM dan 150 mM. Menggunakan persamaan rumus kurva standar maltosa, yaitu $y = Ax + B$ dengan x = kadar maltosa (mg/ml) dan y = absorbansi, dapat diketahui A = kadar maltosa yang dikandung oleh sampel (kadar maltosa awal sampel) dan B = kadar maltosa sampel setelah reaksi hidrolisis enzim. Satuan hasil akhirnya menggunakan Unit/menit (Hidalgo *et al*, 1999).

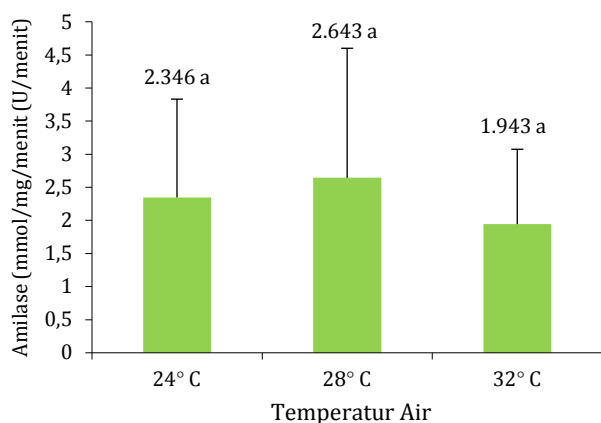
Pengukuran aktivitas protease dimulai dari menyiapkan tabung untuk sampel, kontrol, blanko dan standar. Tabung sampel diisi dengan 350 µl kasein 1%, 300 µl larutan buffer, dan 100 µl ekstrak enzim, tabung kontrol diisi dengan 300 µl larutan buffer, 350 µl TCA 8%, dan 100 µl aquades. Tabung standar diisi dengan 350 µl larutan tirosin standar, 300 µl larutan buffer, dan 100 µl aquades, tabung blanko diisi dengan 300 µl larutan buffer dan 450 µl aquades. Kemudian tabung kontrol, standar, dan blanko diinkubasi

pada suhu 37° C, sedangkan tabung sampel diinkubasi pada suhu 24° C, 28° C, dan 32° C. Keempat tabung tersebut diinkubasi selama 60 menit. Tahap selanjutnya, Larutan TCA 8% sebanyak 750 µl ditambahkan ke dalam tabung standar, sampel, serta blanko, dan 750 µl larutan kasein ke dalam tabung kontrol setelah keempat tabung tersebut diinkubasi. Keempat tabung tersebut dimasukkan ke dalam refrigerator selama minimal 1 jam, selanjutnya disentrifugasi pada kecepatan 12000 rpm selama 10 menit. Absorbansi dari larutan dalam keempat tabung dibaca pada panjang gelombang 280 nm dengan menggunakan *spektrofotometer* dan dicatat hasilnya. Aktivitas enzim protease dihitung menggunakan kurva standar tirosin dengan standar kalibrasi 0,05 mg/ml; 0,10 mg/ml; 0,25 mg/ml; 0,50 mg/ml dan 1,0 mg/ml. Menggunakan persamaan rumus kurva standar tirosin, yaitu $y = Ax + B$ dengan x = kadar tirosin (mg/ml) dan y = absorbansi, dapat diketahui A = kadar tirosin yang dikandung oleh sampel (kadar tirosin awal sampel) dan B = kadar tirosin sampel setelah reaksi hidrolisis enzim. Satuan hasil akhirnya menggunakan Unit/menit (Hidalgo *et al*, 1999).

Data aktivitas protease dan amilase dianalisis dengan *one way analysis of variance* (ANOVA) dan dilanjutkan dengan uji BNT (Steel dan Torrie, 1993).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengukuran aktivitas amilase rata-rata usus halus ikan gurami terhadap perbedaan temperatur air tersaji pada Gambar 1.



Gambar 1. Nilai aktivitas amilase rata-rata usus ikan gurami pada masing-masing temperatur air.

Berdasarkan Gambar 1 dapat diketahui bahwa nilai aktivitas amilase ikan gurami yang dipelihara pada temperatur air 24°C, 28°C, dan 32°C berturut-turut yaitu sebesar 2,346±1,485 U/menit, 2,643±1,957 U/menit, dan 1,943±1,131 U/menit. Data aktivitas amilase rata-rata ikan gurami (gambar 1) selanjutnya dianalisis dengan analisis ragam (ANOVA) untuk mengetahui adanya respon enzim amilase ikan gurami terhadap temperatur air. Hasil analisis ragam terhadap aktivitas amilase pada kondisi temperatur air yang berbeda menghasilkan perbedaan yang tidak signifikan ($P > 0,05$) pada masing-masing perlakuan. Berdasarkan hasil analisis tersebut dapat diartikan bahwa aktivitas amilase memberikan respon yang tidak berbeda terhadap temperatur air yang diterapkan. Hal ini juga sesuai dengan penelitian

Papoutsoglou dan Lyndon (2002), perbedaan temperatur inkubasi tidak menyebabkan adanya perbedaan aktivitas enzim digesti pada ikan nila.

Hasil tersebut terjadi dimungkinkan karena tidak semua spesies ikan air tawar aktivitas amilasena dipengaruhi oleh temperatur, hal ini disebabkan pada masing-masing spesies ikan air tawar memiliki sifat spesifik pada aktivitas amilasena. Sesuai dengan pernyataan Papoutsoglou dan Lyndon (2005), bahwa pada *Dicentrarchus labrax*, *Sparus aurata*, *Oncorhynchus mykiss*, dan *Salmo salar* aktivitas amilasena tidak mengalami perbedaan yang signifikan pada temperatur inkubasi yang berbeda. Hal ini dikarenakan ikan-ikan tersebut memiliki sifat spesifik pada aktivitas amilasena yang tidak dipengaruhi oleh temperatur.

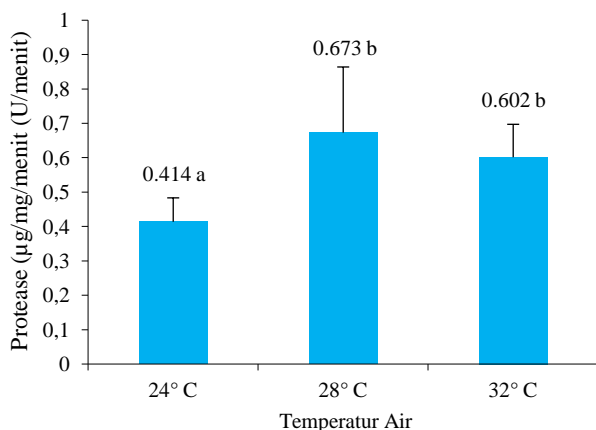
Respon aktivitas amilase yang tidak berbeda terhadap temperatur air selain karena spesies ikan memiliki sifat spesifik pada aktivitas amilasena yang tidak dipengaruhi oleh temperatur, juga dimungkinkan karena ikan lebih banyak mencerna protein sebagai sumber energi dibandingkan dengan karbohidrat yang terkandung dalam pakan. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Nasir (2002), ikan gurami yang diinkubasi pada temperatur antara 25°-32,5°C tidak mengalami perbedaan aktivitas amilase. Hal ini dikarenakan ikan gurami bersifat poikilotherm, sehingga mekanisme digesti enzimatik tetap berfungsi pada temperatur yang berbeda. Pada ikan tersebut protein lebih efektif digunakan sebagai sumber energi daripada karbohidrat, sehingga aktivitas amilase ikan hampir sama pada temperatur yang berbeda. Penggunaan protein yang tinggi sebagai sumber energi menyebabkan kelebihan nitrogen akan dibuang dalam bentuk amoniak melalui sistem ekskresi.

Hasil lain yang juga menunjukkan bahwa aktivitas amilase tidak dipengaruhi oleh suhu yang berbeda adalah hasil penelitian Schindler (2001). Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa ikan air tawar *Canadian* yang dipelihara pada temperatur 18°C-23°C, aktivitas enzim pencernaannya tidak mengalami perbedaan yang signifikan. Rome *et al* (2004) juga menyatakan bahwa aktivitas enzim pencernaan ikan mas yang dipelihara pada temperatur 10°C dan 20°C tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Menurut Kostati (2006), aktivitas enzim amilase ikan gurami tidak mengalami perbedaan pada kondisi suhu yang berbeda.

Hasil pengukuran aktivitas protease rata-rata usus ikan gurami yang tertinggi didapat pada temperatur air 28°C sebesar 0,673±0,191 U/menit, aktivitas terendah didapat pada temperatur air 24°C sebesar 0,414±0,695 U/menit (Gambar 2).

Data aktivitas protease rata-rata usus ikan gurami (Gambar 2) selanjutnya dianalisis dengan analisis ragam (ANOVA) untuk mengetahui adanya respon enzim protease ikan gurami terhadap temperatur air dan uji BNT untuk mengetahui aktivitas protease ikan gurami paling tinggi. Hasil analisis ragam terhadap aktivitas protease pada kondisi temperatur air yang

berbeda menghasilkan perbedaan yang signifikan ($P \leq 0,05$).



Gambar 2. Nilai aktivitas protease rata-rata usus ikan gurami pada masing masing temperatur air

Berdasarkan hasil analisis ragam tersebut dapat diartikan bahwa aktivitas protease memberikan respon terhadap temperatur air. Hal ini juga sejalan dengan penelitian Syamdid *et al* (2006), aktivitas enzim protease ikan gurami yang diinkubasi pada temperatur yang berbeda mengalami perbedaan yang signifikan dan aktivitas paling tinggi terdapat pada temperatur 28°C-29,5°C. Hasil tersebut terjadi karena temperatur air merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi aktivitas enzim. Oleh karena itu peningkatan dan penurunan temperatur air di luar temperatur optimumnya berpengaruh terhadap aktivitas protease.

Peningkatan temperatur di atas temperatur optimum (28°C) aktivitas protease tidak meningkat, karena pada temperatur optimum merupakan temperatur optimal bagi aktivitas protease, sehingga pada peningkatan temperatur di atas temperatur optimum kompleks enzim substrat yang terbentuk dan produk yang dihasilkan tidak meningkat. Penurunan temperatur di bawah temperatur optimum aktivitas protease juga tidak akan meningkat, karena pada kondisi tersebut mengalami kekurangan energi aktivasi untuk pembentukan kompleks enzim substrat. Akibatnya produk yang dihasilkan juga tetap atau aktivitas enzim tidak meningkat. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Nathanailides (2006) yang menyatakan bahwa perubahan temperatur air dapat mempengaruhi tingkat metabolisme dan proses enzimatik dalam tubuh ikan. Hermanto (2000) menjelaskan bahwa dalam menghadapi perbedaan temperatur perairan, ikan gurami akan memberikan respon pada tingkat kinerja enzim yang berbeda.

Hasil uji BNT_{0,05} menunjukkan bahwa perlakuan temperatur air antara 24°C, 28°C, dan 32°C adalah signifikan, artinya bahwa respon aktivitas protease pada temperatur air 28°C dan 32°C lebih tinggi bila dibandingkan dengan temperatur 24°C. Hal tersebut terjadi karena pada temperatur 28°C merupakan

temperatur optimum sehingga aktivitas proteasenya maksimum, yang ditunjukkan dengan produk yang dihasilkan paling tinggi (lampiran 9). Hasil tersebut sesuai dengan penelitian Kurnia (2010) yang menyatakan bahwa aktivitas enzim pencernaan pada ikan gurami yang dipelihara pada temperatur antara 22°C dan 28°C adalah signifikan. Enzim memiliki aktivitas maksimum pada temperatur 28°C-30°C. Kurnia selanjutnya mengatakan bahwa pada kondisi optimum, enzim akan bekerja maksimum dalam membentuk kompleks enzim substrat yang bersifat sementara sampai terurai membentuk enzim bebas dan produknya.

Hasil lain yang serupa dikemukakan oleh Nathanailides (2006), proses enzimatik di dalam dinding usus ikan air tawar bekerja secara maksimum pada temperatur 28-30°C. Handayani (2005) dalam penelitiannya menyatakan bahwa benih ikan gurami yang diinkubasi pada temperatur 26°C-28°C memiliki nilai aktivitas enzim protease paling tinggi. Kelabora (2010) menjelaskan bahwa benih ikan mas yang dipelihara pada temperatur 28°C memiliki aktivitas enzim pencernaan paling tinggi. Menurut Bundit *et al* (2000), ikan *Oreochromis niloticus* L. memperlihatkan aktivitas protease yang tinggi pada temperatur aklimasi 27°C-28°C. Fernando *et al* (2007) juga menyatakan bahwa aktivitas enzim pencernaan *Brycon orbignyanus* dipengaruhi oleh temperatur dan paling tinggi pada temperatur 28°C. Hal tersebut mengindikasikan kinerja aktif dari enzim protease.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan maka dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan aktivitas protease usus ikan gurami pada perbedaan temperatur air, namun aktivitas amilase tidak mengalami perubahan.

DAFTAR REFERENSI

- Affandi R, Sjafai DS, Raharjo MF, Sulistiono. 2005. Fisiologi ikan, pencernaan, dan penyerapan makanan. Bogor: Departemen Manajemen Sumberdaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.
- Budiati R, Palestina S, Nicho A, Sandra M. 2009. Pengukuran daya cerna pati secara in vitro, pengukuran kadar serat pangan metode enzimatik-gravimetrik, dan pengukuran kadar pati resisten. Bogor: Departemen Manajemen Sumberdaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.
- Bundit T, Bonnie JS, Thomas C, Stephen AS. 2000. Distribution of intestinal enzyme activities along the intestinal tract of cultured Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. *Aquaculture* 182: 317-327.
- Carman O, Maftucha L, Arfah H. 2006. Pemijahan secara buatan pada ikan gurame *Osphronemus gouramy* Lac. dengan penyuntikan ovaprim. *Jurnal akuakultur Indonesia* 5(2): 103-112.
- Fernando L, Garcia C, Cristiane ACM, Angeles NT, Evoy Z. 2007. Digestive proteinases of *Brycon orbignyanus* (Characidae Teleostei): characteristics and effects of protein quality. *Comparative Biochem. and Physiol. Part B* 132: 343-352.
- Furne M, Gallego GM, Hidalgo MC, Morales AE, Domezain A, Domezaine J, Sanz A. 2005. Digestive enzyme activities in adriatic sturgeon (*Acipenser naccarii*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comparative Biochem. and Physiol. Aquaculture* 250: 391-398.

- Grizzle JM, Rogers WA. 2003. Anatomy and histology of the freshwater. Departement of Fisheries and Applied Aquaculture, Auburn University. p. 89.
- Handayani S, Zairin M, Mokoginta I, Bintang M, Sudrajat AO. 2005. Perubahan enzim-Enzim pencernaan pada ikan gurami (*Osphronemus gouramy*) sebagai respon terhadap pakan yang mengandung kadar protein dan karbohidrat serta suhu yang berbeda. *Aquakultura Indonesiana* 9(1): 25-29.
- Hermanto. 2000. Optimalisasi suhu media pada pemeliharaan benih ikan gurami (*Osphronemus gouramy* Lac.) [tesis]. Program Pascasarjana. Bogor: Institut Pertanian Bogor. p. 63.
- Hidalgo MC, Urea E, Sanz A. 1999. Comparative study of digestive enzymes in fish with different nutritional habits. proteolytic and amylase activities. *Aquaculture* 170(3): 267-283.
- Kelabora DM. 2010. Pengaruh suhu terhadap kelangsungan hidup dan pertumbuhan larva ikan Mas (*Cyprinus carpio*). *Berkala Perikanan Terubuk* 38(1): 13.
- Kostati R. 2006. Konsumsi pakan maksimal dan pertumbuhan ikan gurami pada kondisi suhu yang berbeda [skripsi]. Bogor: Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan, Institut Pertanian Bogor. p. 65.
- Kurnia DRD. 2010. Studi aktivitas enzim pencernaan dari *Osphronemus gouramy* sebagai biokatalis pada proses gliserolisis untuk menghasilkan monoasilgliserol [tesis]. Program Pascasarjana. Semarang: Universitas Diponegoro. p. 72.
- Moyle PB, Joseph CJ. 2001. Fishes an introduction to ichthyology. Fourth Edition. London: Prentice-hill International Limited.
- Nasir M. 2002. Pengaruh kadar selulosa yang berbeda dalam pakan terhadap panjang usus dan aktivitas enzim pencernaan benih ikan gurami [tesis]. Bogor: Program Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Natalia Y, Hasyim R, Ali A, Chong A. 2004. Characterization of digestive enzymes in a carnivorous ornamental fish, the Asia Bony Tongue, *Sceleropages formosus* (Osteoglossidae). *Aquaculture* 233(3): 305-320.
- Nathanailides C. 2006. Are changes in enzyme activities of fish muscle during cold acclimation significant. National Centre for Marine Research Aquaculture Unit. Departement of Veterinary Basic Science, University of London. London: NWI OTU U.K.
- Papoutsoglou ES, Lyndon AR. 2002. Effect of incubation on enzyme digestion in important teleost for aquaculture. *Aquaculture* 27: 1243-1257.
- Papoutsoglou ES, Lyndon AR. 2005. Effect of incubation temperature on carbohydrate digestion in important teleost for aquaculture. *Aquaculture Research* 36: 1252-1264.
- Rahayu R. 2002. Efisiensi dan konversi pakan pada ikan gurami yang dipelihara dengan temperatur air yang berbeda [skripsi]. Purwokerto: Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman.
- Rome LC, Funke RP, Alexander RM. 2004. The influence of temperature on muscle velocity and sustained performance in swimming carp. *J. Exp. Biol.* 154: 163-178.
- Schindler DW. 2001. The cumulative effects of climate warming and other human stresses on *Canadian* freshwaters in the new millennium. Department of Biological Sciences. *J. of Fish Aquatic* 58: 18-29.
- Sebayang F. 2005. Isolasi dan pengujian aktivitas enzim α -amilase dari *Aspergillus niger* dengan menggunakan media campuran onggok dan dedak. *J. Komunikasi Penelitian.* 17 (5).
- Setyowati DN, Hardiningsih I, Priyono SB. 2007. Sintasan dan pertumbuhan benih pasca larva beberapa subspecies gurami (*Osphronemus gouramy*). *J. Perikanan* 9(1): 149-153.
- Steel RGD, Torrie JH. 1993. Prinsip dan prosedur statistika. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Syamdidi, Ikasari D, Wibowo S. 2006. Studi sifat fisiologi ikan gurami (*Osphronemus gourami*) pada suhu rendah untuk pengembangan teknologi transportasi ikan hidup. *J. Pascapanen dan Bioteknologi Perikanan* 1(1)
- Tranggono, Sutardi. 2005. Sifat fisiologi dan biokimiawi ikan gurami. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Wijayanti. 2004. Studi aktivitas protease pada benih ikan gurami [skripsi]. Bogor: Fakultas Perikanan Institut Pertanian Bogor.